

舒肺贴对 COPD 大鼠肺组织 IL-8、TNF- α 及黏蛋白 MUC5AC 表达的影响

周昌妮¹, 韩德恩¹, 徐如冰¹, 朱冷音¹, 申延利¹, 贾永艳^{1,2*}
(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 河南 郑州 450046)

摘要: **目的** 探讨舒肺贴(芫花、芥子、延胡索等)对慢性阻塞性肺疾病(COPD)大鼠血清、支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎症因子水平,以及肺组织黏蛋白基因 MUC5AC 表达的影响。**方法** 将 80 只健康 SD 雄性大鼠随机分为正常对照组、模型组、舒肺贴组、氨茶碱组。采用烟熏联合脂多糖(LPS)感染法建立大鼠慢阻肺模型, AniRes2005 动物肺功能分析系统测定大鼠肺功能, ELISA 法检测各组大鼠血清、BALF 中 IL-8、TNF- α 含量, 免疫组织化学染色观察黏蛋白基因 MUC5AC 的表达。**结果** ELISA 检测结果显示, 模型组、舒肺贴组和氨茶碱组大鼠 BALF 和血清中 IL-8、TNF- α 含量明显高于正常对照组, 舒肺贴组和氨茶碱组与模型组相比均显著降低。相比舒肺贴组, 氨茶碱组在降低 TNF- α 含量方面效果更显著, 但两者在降低 IL-8 含量方面效果无明显差异。免疫组化结果显示, 黏蛋白基因 MUC5AC 主要表达于支气管管腔内, 其次是上皮、间质组织, 淋巴组织也有少量表达。模型组积分光密度 IOD 值较正常对照组升高, 而舒肺贴组、氨茶碱组较模型组明显降低。**结论** 舒肺贴可以明显改善慢阻肺大鼠的肺通气功能, 降低炎症因子 IL-8、TNF- α 含量, 减轻气道及肺组织炎症, 下调 MUC5AC 黏蛋白, 对气道黏蛋白高分泌有明显的抑制作用。

关键词: 舒肺贴; 慢性阻塞性肺疾病(COPD); 炎症因子; 黏蛋白基因 MUC5AC
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)11-2319-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.11.002

Effects of Shufei Plaster on the expressions of IL-8, TNF- α and mucin MUC5AC in lung tissue of COPD rats

ZHOU Chang-ni¹, HAN De-en¹, XU Ru-bing¹, ZHU Ling-yin¹, SHEN Yan-li¹, JIA Yong-yan^{1,2*}
(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of Shufei Plaster (*Genkwa Flos*, *Sinapis Semen*, *Corydalis Rhizoma*, etc.) on the levels of inflammatory cytokines in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF), and the expression of mucin MUC5AC in lung tissue of rats with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **METHODS** Eighty healthy male SD rats were randomly divided into control group, model group, Shufei Plaster group and aminophylline group. The rat model of chronic obstructive pulmonary disease was established by smoking combined with lipopolysaccharide (LPS). The pulmonary function of rats was detected by AniRes2005 animal lung function analytic system. The contents of IL-8 and TNF- α in rats' serum and BALF were detected by ELISA method. The expression of mucin MUC5AC was observed by immunohistochemical staining. **RESULTS** ELISA results showed that the contents of IL-8 and TNF- α in serum and BALF of rats in model, Shufei Plaster and amin-

收稿日期: 2015-12-29
基金项目: 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心基金项目(2013003); 河南省科技攻关计划项目(092102310112); 河南中医学院研究生创新基金项目(2014YCX003)
作者简介: 周昌妮(1990—), 女, 硕士生, 研究方向为药物制剂新技术。Tel: 18736089354, E-mail: 2359808243@qq.com
* 通信作者: 贾永艳(1965—), 女, 教授, 硕士生导师, 研究方向为药物制剂新技术与新剂型。Tel: 13526862076, E-mail: hnzyjyy@126.com

ophylline groups were significantly higher than those of the control group. These values in Shufei Plaster group and aminophylline group were significantly lower than those in the model group. Compared with Shufei Plaster group, the aminophylline group was more significant in reducing the TNF- α level. But between the two groups, there were no significant difference in reducing the IL-8 level. Immunohistochemistry results showed that mucin MUC5AC was mainly expressed in the bronchial lumen, followed by the epithelial and mesenchymal tissues, and was also expressed a little in the lymphoid tissue. IOD value of the model group was significantly higher than that of the control group, but IOD values of Shufei Plaster and aminophylline groups were markedly lower than that of the model group. **CONCLUSION** Shufei Plaster can improve the pulmonary ventilation function in rats with chronic obstructive pulmonary disease, reduce the contents of inflammatory cytokines IL-8, TNF- α and the inflammation of airway and lung tissue, and decrease mucin MUC5AC. It has an apparent inhibitory effect on airway mucin hypersecretion.

KEY WORDS: Shufei Plaster; chronic obstructive pulmonary disease (COPD); inflammatory cytokine; mucin MUC5AC

慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 是呼吸系统疾病中的常见病和多发病, 预计至 2020 年将上升为世界三大致死病因之一^[1]。COPD 是一种以持续存在的气流受限为特征的疾病, 与肺部对烟雾等有害气体或有害颗粒的异常炎症反应有关^[2]。目前普遍认为, COPD 是以气道、肺实质和肺血管的慢性炎症为特征, 气道炎症是疾病发病过程中的一个关键环节。肿瘤坏死因子 (TNF- α) 与白细胞介素-8 (IL-8) 共同参与 COPD 气道炎症, 是构成其气道炎症的细胞因子网络的重要组成成分, 在 COPD 的发病过程中起着关键作用。MUC5AC 是一种主要的黏蛋白基因, 已证实在 COPD 病人气道中是增加的^[3]。舒肺贴是我院开发的院内制剂, 由芫花、芥子、延胡索、细辛、肉桂、干姜、椒目 7 味药材组成, 具有祛痰活血、温振肺气、止咳平喘之功效, 主要治疗慢性阻塞性肺疾病。临床研究表明, 舒肺贴能够减少 COPD 急性发作次数, 提高患者的生存质量^[4], 但其作用机制尚待进一步研究。本实验以 COPD 大鼠为研究对象, 探讨舒肺贴对大鼠肺组织炎症因子及黏蛋白 MUC5AC 的影响, 以进一步探讨其作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠, 80 只, 体质量 (200 $\pm$ 20) g, 由山东鲁抗医药股份有限公司提供, 合格证号 SCXK (鲁) 2013 0001。

1.2 药物 舒肺贴 (由芥子、芫花、延胡索、干姜、细辛、椒目、肉桂组成, 6 g/支, 每克含生药 3 g, 批号 140812, 河南中医学院第一附属医院院内制剂, 批准文号豫药制字 Z20120014 [郑]); 芥子 (批号 20140101)、芫花 (批号 20140315)、延

胡索 (批号 20140301)、干姜 (批号 20140311)、细辛 (批号 20140315)、椒目 (批号 20130301)、肉桂 (批号 20140215) 均购自河南顺康医药有限责任公司; 氨茶碱片 (山西太原药业有限公司, 0.1 g/片, 批号 141014, 批准文号为国药准字 H14020283)。

舒肺贴的制备方法^[5]: 肉桂粉碎, 过 120 目药筛, 加芥子 (1/5) 混合粉碎, 过 100 目筛, 备用。芫花、延胡索、芥子 (4/5) 加 70% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1 h, 滤过, 合并滤液, 回收乙醇, 浓缩, 备用。椒目粉碎成粗粉, CO₂ 超临界萃取, 萃取物备用。干姜、细辛混合萃取, 萃取物备用。按比例取吐温-80, 加入蒸馏水中混合均匀, 取卡波普适量, 溶胀过夜, 脱泡。取浓缩后药膏, 加入卡波普、月桂醇硫酸钠和甘油, 再加入肉桂、芥子粉和超临界萃取物, 混合均匀, 加尼泊金乙酯, 灌装, 封尾, 即得。

1.3 试剂与仪器 散花牌过滤嘴香烟 (烤烟型, 焦油量 11 mg, 烟气烟碱量 0.7 mg, 烟气一氧化碳量 13 mg, 河南中烟工业有限责任公司); 脂多糖 (10 mg, Sigma 公司, 批号 20150221); SP-0023 免疫组化染色试剂盒 (北京博奥森生物技术有限公司, 批号 AE0323); 大鼠 MUC5AC 单克隆抗体 (北京博奥森生物技术有限公司, 批号 AE060315); 戊巴比妥钠 (5 g, Merck 公司, 批号 922L036); ELISA 检测试剂盒 (江苏卡尔文生物科技有限公司, 批号分别为 20150601A 和 20150605A)。

IVC-II 型动物饲养笼具 (冯氏实验动物设备有限公司, 苏州); 烟熏箱 (800 cm $\times$ 800 cm $\times$ 750 cm 的密闭有机玻璃箱, 自制); AniRes2005 动

物肺功能分析系统（北京贝兰博科技有限公司）；OLYMPUS-DP72 型显微镜及 OLYMPUS-BX-UCB 荧光显微镜及成像系统照相系统（OLYMPUS, Japan）；Image-Pro-Plus V 7.0 显微镜图像分析系统（Media Cybernetics, MC, 美国）；THERMO Multiskan GO 全波长酶标仪（Thermo Scientific 公司, 美国）。

2 方法

2.1 模型制备 采用烟熏联合脂多糖感染的方法建立 COPD 急性期大鼠模型，造模时间 2 个月，每隔 10 d 大鼠鼻滴 LPS 1 次，每次 200 μL （质量浓度为 200 $\mu\text{g}/200 \mu\text{L}$ ），其他时间在自制完全封闭式木箱内烟熏，每次 12 支，每天 2 次，间隔 4 h，每次 40 min。依据大鼠常规症状、肺功能和肺组织病理等指标确定造模是否成功。

2.2 分组与给药 将 80 只健康 SD 雄性大鼠随机分为正常对照组、模型组、舒肺贴组、氨茶碱组，每组 20 只。正常对照组和模型组以 2 mL 生理盐水灌胃同时给予模拟穴位贴敷，舒肺贴组以 2 mL 生理盐水灌胃并给予舒肺贴贴敷，氨茶碱组以 2 mL 氨茶碱生理盐水溶液灌胃 [2.27 mg/(kg·d)] 联合模拟穴位贴敷。药物剂量采用等效剂量系数换算公式计算，公式为 $D_{\text{大鼠}} = D_{\text{人}} \times (\text{HI}_{\text{大鼠}}/\text{HI}_{\text{人}}) \times (W_{\text{人}}/W_{\text{大鼠}})^{2/3}$ ，其中 D 为剂量，HI 为体型系数， W 为体质量。每周称量大鼠体质量 1 次，以调整给药剂量。各组灌胃 2 次/d，给药时间 1 个月。取材前禁食 24 h，不禁水。

穴位贴敷具体方法：穴位选择大椎、肺俞、肾俞，背部穴位均取双侧^[6]。给药前一天大鼠以 2% 戊巴比妥钠轻度麻醉，穴位处进行脱毛，脱毛面积 1.5 cm × 1.5 cm。取药膏制成 0.5 cm × 0.5 cm 大小的药饼，每个药饼含舒肺贴 0.1 g，用胶布贴于穴位上。自第 61 天开始给药，一周 2 次（每周一、周四给药），每次 4 ~ 6 h，给药时间 1 个月。

2.3 指标测定

2.3.1 肺功能测定^[7] 给药结束后，各组大鼠用 2% 戊巴比妥钠（0.5 mL/100 g）麻醉，行气管插管，将其仰卧位放置，于密闭整体体积描记箱内稳定 5 min 后，由 AniRes2005 动物肺功能分析系统测定各组大鼠第 0.1 秒用力呼气容积（FEV 0.1）、第 0.1 秒用力呼气容积与用力肺活量之比（FEV 0.1/FVC）和呼气峰流速（PEF），以此评价大鼠肺功能。

2.3.2 肺组织病理^[7] 肺功能测定结束后，腹主

动脉采血处死大鼠，剖开胸腔，在交叉处结扎左侧主支气管，取出左肺组织，10% 福尔马林固定，苏木素-伊红（HE）染色观察炎性细胞浸润，Masson 三色染色检验胶原沉积量，免疫组化染色检测 MUC5AC 黏蛋白。

2.3.3 大鼠肺泡平均内衬间隔（MLI）及平均肺泡数（MAN）测定^[7] 每只大鼠取 3 个 HE 染色切片，低倍镜（100 ×）下随机取 5 个视野（避开大血管和支气管），在每个视野正中心划十字交叉线，计数与交叉线相交的肺泡隔数（NS），同时测出十字线总长（L），按公式 $\text{MLI} = L/\text{NS}$ 计算，以表示肺泡平均内衬间隔。计数每个视野的肺泡数，除以该视野的面积，即得 MAN。测定时避开大血管和支气管，每张切片 5 个视野，求平均值。

2.3.4 BALF 中 IL-8 和 TNF- α 的含有量测定^[7]

取出左肺后，用 7 mL 生理盐水灌洗右肺支气管肺泡，灌洗分 3 次回收 BALF，回收率约为 60% ~ 90%，BALF 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、1 000 r/min 下离心 10 min，取上清液，-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存，用于 IL-8 和 TNF- α 含有量的测定。

2.3.5 血清中 IL-8、TNF- α 的测定^[7] 将腹主动脉所采血液于 3 000 r/min 下离心 10 min，取上清液，-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存，严格按照试剂盒说明书操作检测 IL-8 和 TNF- α 。

2.3.6 肺组织 MUC5AC 黏蛋白表达^[7] 采用免疫组化 SP 法检测，200 倍光镜观察，应用计算机图像分析软件 OLYMPUS-BX-UCB 采图系统，对免疫组化染色各组切片进行图像采集，每张切片使用计算机图像分析软件 Image-Proplus 7.0，以积分光密度（IOD）为指标来对各组免疫组化染色进行定量分析。

2.4 数据处理 采用统计软件 SPSS 17.0 进行数据分析，多组间比较采用单因素方差分析，结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两两比较采用 LSD 法，显著性水准取 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为有显著性差异， $P < 0.01$ 为有极显著性差异。

3 结果

3.1 常规观察 正常对照组：大鼠活动度良好，反应灵敏、皮毛光泽，饮食饮水正常，鼻部较干净，大鼠粪便排泄正常，体质量增加。模型组：大鼠随实验进程逐渐出现倦怠少动，皮毛枯槁，形体消瘦，饮食饮水量减少，体质量增加程度减慢，有咳嗽、喷嚏等现象，部分大鼠出现口鼻潮湿或分泌物增多的情况。随着给药时间的增加，治疗组大鼠

毛色逐渐恢复光泽,呼吸浅促症状缓解,基本无口鼻潮湿或分泌物增多等情况。

3.2 肺功能测定 经 AniRes2005 动物肺功能分析系统测定各组大鼠肺功能,发现模型组 FEV 0.1/FVC (%)、FEV 0.1 和 PEF 较正常对照组显著降低 ($P<0.01$);舒肺贴组和氨茶碱组较模型组显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。结果见表 1。

表 1 大鼠肺功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of lung function of rats ($\bar{x} \pm s$)				
组别	动物数/ 只	FEV 0.1/mL	(FEV 0.1/FVC)/ %	PEF/ (mL·s ⁻¹)
正常对照组	19	3.36 ± 0.13	39.54 ± 1.24	51.50 ± 1.07
模型组	17	0.69 ± 0.06 **	23.49 ± 0.83 **	41.88 ± 1.44 **
舒肺贴组	18	2.80 ± 0.12 **#	27.95 ± 1.55 **#	48.79 ± 1.69 **#
氨茶碱组	18	2.95 ± 0.18 **##	30.10 ± 1.9 **##	49.44 ± 1.03 **##

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

3.3 大鼠肺泡平均内衬间隔 (MLI) 及平均肺泡数 (MAN) 测定 经 OLYMPUS-BX-UCB 图像分析系统定量测量各组大鼠肺组织中 MLI、MAN,评价肺气肿程度,发现模型组与正常对照组相比,MLI 明显增多 ($P<0.01$),MAN 明显减少 ($P<0.01$);舒肺贴组和氨茶碱组与模型组相比,MLI 明显减少 ($P<0.01$),MAN 明显增多 ($P<0.01$)。结果见表 2。

表 2 大鼠肺组织中 MLI 和 MAN 检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Detection results of MLI and MAN in the lung tissue of rats ($\bar{x} \pm s$)				
组别	动物数/只	MLI/($\mu\text{m} \cdot \text{个}^{-1}$)	MAN/($\text{个} \cdot \text{mm}^{-2}$)	
正常对照组	19	32.50 ± 2.50	178.22 ± 4.24	
模型组	17	86.00 ± 4.27 **	92.44 ± 3.83 **	
舒肺贴组	18	65.56 ± 4.27 **##	130.62 ± 1.55 **##	
氨茶碱组	18	58.62 ± 2.45 **## $\Delta\Delta$	149.10 ± 1.9 **## $\Delta\Delta$	

注:与正常对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$;与舒肺贴组比较, $\Delta\Delta P<0.01$

3.4 肺组织炎症程度 正常对照组肺组织结构正常,镜下可见肺组织结构完整、清晰,黏膜上皮完整,无细胞脱落,肺间质内未见明显炎性细胞浸润及上皮细胞脱落。模型组肺泡结构被破坏,肺泡腔扩大,血管扩张充血,镜下可见肺泡间质明显增厚,支气管和血管周围大量炎性细胞聚集分布,其中以淋巴细胞为主,支气管部分上皮脱落。舒肺贴组和氨茶碱组上述病理情况均有不同程度改善^[8]。结果见图 1。

3.5 BALF 及血清中 IL-8、TNF- α 的测定 ELISA 检测结果显示,模型组、舒肺贴组和氨茶碱组大鼠

2322

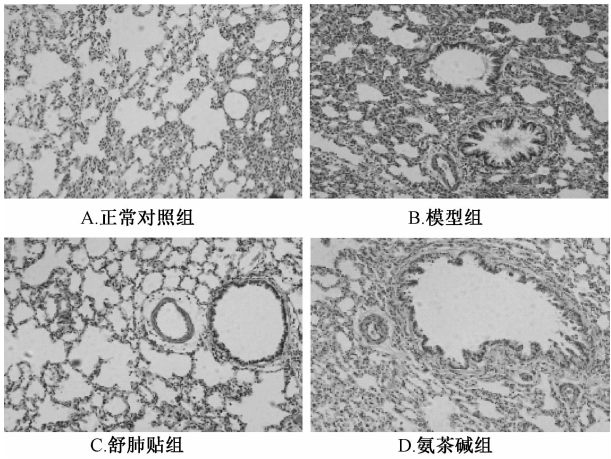


图 1 大鼠肺组织病理照片 (HE 染色, $\times 200$)

Fig. 1 Pathological pictures of the lung tissue in rats (HE staining, $\times 200$)

BALF 和血清中 IL-8、TNF- α 含有量均明显高于正常对照组 ($P<0.01$);舒肺贴组和氨茶碱组大鼠 BALF 和血清中 IL-8、TNF- α 含有量与模型组相比,均显著降低 ($P<0.01$);舒肺贴组与氨茶碱组相比,后者在降低 TNF- α 含有量方面效果更显著 ($P<0.05$, $P<0.01$),但两者在降低 IL-8 含有量方面效果无明显差异 ($P>0.05$)。结果见表 3~4。

表 3 大鼠 BALF 中 IL-8 和 TNF- α 含有量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of IL-8 and TNF- α contents in the BALF of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	IL-8/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	TNF- α /($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常对照组	19	210.01 ± 4.64	277.0 ± 6.35
模型组	17	338.87 ± 6.48 **	406.61 ± 5.07 **
舒肺贴组	18	279.20 ± 3.44 **##	340.20 ± 7.15 **##
氨茶碱组	18	259.33 ± 4.15 **##	318.75 ± 9.48 **## $\Delta\Delta$

注:与正常对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$;与舒肺贴组比较, $\Delta\Delta P<0.01$

表 4 大鼠血清中 IL-8 和 TNF- α 含有量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of IL-8 and TNF- α contents in the serum of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	IL-8/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	TNF- α /($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常对照组	19	188.55 ± 3.23	212.99 ± 7.47
模型组	17	356.61 ± 6.79 **	345.26 ± 5.08 **
舒肺贴组	18	255.03 ± 8.84 **##	279.48 ± 3.36 **##
氨茶碱组	18	232.75 ± 5.85 **##	272.33 ± 5.22 **## $\Delta\Delta$

注:与正常对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$;与舒肺贴组比较, $\Delta\Delta P<0.05$

3.6 肺组织 Masson 染色检验胶原沉积 Masson 染色结果显示,与正常对照组相比,模型组的各级气管、血管胶原(被染成绿色)含有量明显增多,舒肺贴组和氨茶碱组胶原含有量有不同程度的降

低,结果见图 2。IOD 值测定结果显示,模型组肺组织中胶原着色面积显著高于正常对照组 ($P < 0.01$),舒肺贴组和氨茶碱组与模型组相比,其胶原着色面积均显著降低 ($P < 0.01$),结果见表 5。

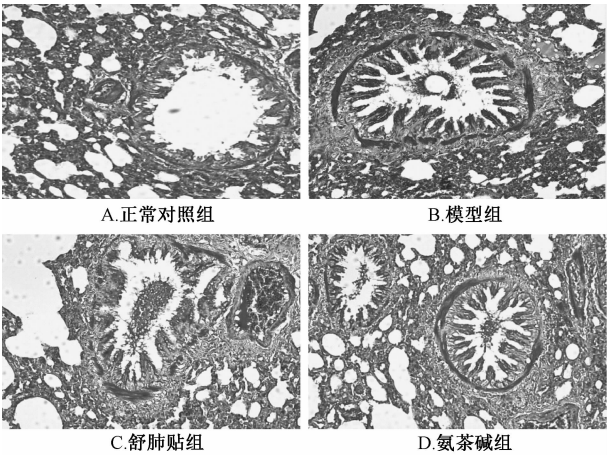


图 2 大鼠肺组织病理照片 (Masson 染色, ×200)
Fig.2 Pathological pictures of the lung tissue in rats (Masson staining, ×200)

表 5 大鼠肺组织胶原含量比较 ($\bar{x} \pm s$)
Tab.5 Comparison of collagen content in the lung tissue of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	IOD
正常对照组	19	5.45 ± 0.56
模型组	17	12.34 ± 1.66 **
舒肺贴组	18	8.41 ± 0.78 ***
氨茶碱组	18	7.08 ± 1.78 ***△△

注:与正常对照组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,*** $P < 0.01$;与舒肺贴组比较,△△ $P < 0.01$

3.7 肺组织 MUC5AC 黏蛋白表达 免疫组化法检测结果显示,MUC5AC 主要表达于支气管管腔内,其次是上皮、间质,淋巴组织也有少量表达,结果见图 3。IOD 值测定结果显示,模型组肺组织中 MUC5AC 表达水平显著高于正常对照组 ($P < 0.01$),舒肺贴组和氨茶碱组与模型组相比,其表达均显著降低 ($P < 0.01$),结果见表 6。

表 6 大鼠肺组织 MUC5AC 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)
Tab.6 Comparison of MUC5AC expression in the lung tissue of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	IOD
正常对照组	19	1.24 ± 0.11
模型组	17	4.48 ± 0.45 **
舒肺贴组	18	2.04 ± 0.12 ***
阳性组	18	1.87 ± 0.39 ***

注:与正常对照组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,*** $P < 0.01$

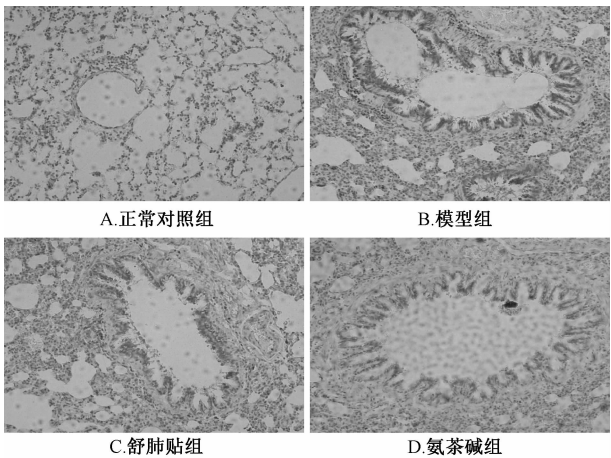


图 3 大鼠肺组织免疫组化染色照片 (×200)
Fig.3 Immunohistochemical staining pictures of the lung tissue in rats (×200)

4 讨论

由于 COPD 患者大多伴有中、重度的肺功能障碍,故难以接受有创性的检查,而检测各种炎性介质的表达在评估病情方面将发挥其优势,TNF-α 及 IL-8 水平的变化对 COPD 诊断和预后判断具有积极作用^[9]。COPD 的主要病理基础为气道炎症反应,是引起气道阻塞的主要因素,并且随着气道炎症发展而加重。研究发现,TNF-α 具有多种前炎性介质的功能,包括促进中性粒细胞颗粒伴蛋白水解酶释放和呼吸爆发,最终导致气道结构破坏。IL-8 是一种重要的炎症介质,目前所知其是一种多源的细胞因子,可在 TNF-α 以及 IL-1 的诱导下合成与释放。IL-8 通过与上述细胞表面 IL-8 受体结合,趋化上述细胞到达炎症部位而引起炎症反应^[10]。已有研究表明^[11],大鼠慢阻肺模型中黏蛋白基因 MUC5AC 表达升高,主要定位于支气管、血管及肺泡上皮细胞。本实验发现,模型组大鼠黏蛋白基因 MUC5AC 主要表达于支气管管腔内,其次是上皮、间质组织,淋巴组织也有少量表达,模型组较正常对照组表达量增加,差异显著,在舒肺贴进行干预治疗后,大鼠的蛋白表达异常得以改善,说明舒肺贴可以下调 MUC5AC 黏蛋白,通过减轻气道粘液高分泌的作用来达到防治的目的。

临床上,中药及其复方用于 COPD 的治疗往往取得良好疗效,而祛痰活血、补益肺气、止咳平喘等是处方用药的依据与基础。现代研究表明,中药祛痰活血、补益肺气、止咳平喘等功效的发挥又与其抗炎药理作用密切相关^[12-13]。本实验发现,舒肺贴能够降低 COPD 大鼠肺脏局部及全身系统性炎

症因子的表达, 包括白细胞介素-2 (IL-2)、白细胞介素-6 (IL-6)、单核细胞趋化蛋白 (MCP-1) 及 p38 磷酸, 其抗炎作用可能与抑制 JNK/p38MAPK 通路活化有关^[14-16]。结果显示, 舒肺贴和氨茶碱均可降低 BALF 和血清中 IL-8、TNF- α 含有量及肺组织黏蛋白因子 MUC5AC 表达, 尽管舒肺贴组与氨茶碱组相比, 后者在降低 TNF- α 含有量方面效果更显著, 但两者在降低 IL-8 及 MUC5AC 表达方面效果无明显差异。综上所述, 舒肺贴可显著改善 COPD 患者的肺通气功能, 降低炎症因子 IL-8、TNF- α 含有量, 下调 MUC5AC 黏蛋白, 可为本制剂的进一步开发及临床用药提供科学参考及理论依据。

参考文献:

[1] Hanania N A, Marciniuk D D. A unified front against COPD: clinical practice guidelines from the American College of Physicians, the American College of Chest Physicians, the American Thoracic Society, and the European Respiratory Society [J]. *Chest*, 2011, 140 (3): 565-566.

[2] 符子艺, 刘小虹, 任吉祥, 等. 痰热清注射液治疗慢性阻塞性肺疾病合并呼吸衰竭的 Meta 分析 [J]. *中草药*, 2014, 45 (6): 889-894.

[3] 杨 蕤, 马 克, 万 荣. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的建立及药物干预的研究 [J]. *云南医药*, 2009, 30 (1): 14-17.

[4] 张盼奎, 余学庆, 李建生, 等. 舒肺贴治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期患者 112 例贴敷时间分析 [J]. *中医研究*, 2013, 26 (7): 63-66.

[5] 贾永艳, 贾 永, 陈 波, 等. 舒肺贴提取工艺优选研究 [J]. *中医学报*, 2012, 27 (6): 718-719.

[6] 华兴邦, 李辞蓉, 周浩良, 等. 大鼠穴位图谱的研制 [J]. *实验动物与动物实验*, 1991 (1): 1-5.

[7] 魏 伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学 [M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1191-1192.

[8] 奥斯利 P. 加特纳, 詹姆斯 L. 西亚特. 组织学彩色图谱 [M]. 史小林, 翁 静, 梁元晶等, 译. 北京: 化学工业出版社, 2008: 243-247.

[9] 褚新颖, 李立宇. 白介素在慢性阻塞性肺疾病气道炎症中的作用 [J]. *河北北方学院学报: 自然科学版*, 2014, 30 (5): 110-113.

[10] 董 樑, 夏敬文, 龚 益, 等. 连花清瘟胶囊治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床疗效和作用机制 [J]. *中成药*, 2014, 36 (5): 926-929.

[11] 鲁世友. 慢性阻塞性肺疾病寒饮蕴肺证大鼠模型肺组织 AQP1、Muc5ac 表达的动态研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2010.

[12] 赵玉飞. COPD 稳定期抗炎治疗的中医探讨 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2010.

[13] 张保国, 刘庆芳. 小青龙汤现代研究与新用 [J]. *中成药*, 2012, 34 (2): 340-344.

[14] 李建生, 余学庆. 中医药治疗慢性阻塞性肺疾病临床研究要点的思考 [J]. *中医杂志*, 2011, 22 (21): 1805-1809, 1821.

[15] Dong J, Wang J, He Y, *et al.* GHIP in *Streptococcus pneumoniae* is involved in antibacterial resistance and elicits a strong innate immune response through TLR2 and JNK/p38MAPK [J]. *FEBS J*, 2014, 281 (17): 3803-3815.

[16] Strebovsky J, Walker P, Dalpke A H. Suppressor of cytokine signaling proteins as regulators of innate immune signaling [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2012, 17: 1627-1639.